マイクロアッセイ UIBC(不飽和鉄結合能)キット
(バソフェナントロリン法)

取扱説明書

(商品コード：UIB02A)
ver. 1.1　　2015 年 7 月 9 日

*本製品は研究用キットです。診断、治療目的には使用しないで下さい。
*下記 web 上に掲載しているプロトコールの最新版を確認のうえ操作して下さい。
http://metallogenics/

【測定原理】

本法はバソフェナントロリンと鉄とのキレート錯体形成による可視部の発色を観測し不飽和鉄結合能（UIBC）を求めます。
試料に既知過剰量の鉄を含有する緩衝液を加えると､試料中の不飽和トランスフェリンが緩衝液中の鉄と結合し、飽和トランスフェリンとなります。次に発色試液（バソフェナントロリン・還元剤）を加えると、トランスフェリンと結合しなかった残余鉄が赤色に呈色されます。
このときの 546nm の吸光度を観測し、既知過剰量の鉄から残余鉄量を差し引くことにより、UIBC を求めることができます。

【UIBC 測定の意義】

血中では、トランスフェリンの約三分の一が鉄と結合し、残りは鉄と結合していない遊離トランスフェリンとして存在しています。総鉄結合能(TIBC)と、不飽和鉄結合能(UIBC)との関係は、“TIBC=UIBC+血清鉄”です。総鉄結合能は血清鉄との値と合せて鉄代謝異常、血液疾患、肝疾患、腫瘍、炎症などで変動します。UIBC（不飽和鉄結合能）は、鉄が欠乏した状態で高値を示し、感染症、炎症、悪性腫瘍、ネフローゼ症候群、低タンパク症状では低値を示すことが知られています。

【キットの内容】

合計 200 測定分（商品コード：UIB02A）

R-A 緩衝液（Fe として 80μg/dL）	40mL×1
R-R 発色試液	6mL×1

【測定試料の注意点】

1）採取後の検体は速やかに測定してください。
2）抗凝固剤の EDTA は正誤差を与えるので使用しないでください。
3）抗凝固剤のヘパリン、クエン酸塩、シュウ酸および解糖阻止剤のフッ化ナトリウムは通常使用量では測定値に影響を与えません。
4）本法は、その得られる数値を保証するものではありません。予め特性を確認した後、応用される際は最適パラメータを試料種ごとに検討の上、ご使用されることをお奨め致します。
5）血清以外の試料には対応しておりません。

【オペレーション】

1．試薬の準備　（用事調製）

R-A 緩衝液・R-R 発色試液：そのまま使用してください。
*開封後は冷暗所に保管し、一ヶ月以内に使い切ってください。

2．試料の調製

血清・血漿 ： そのままアッセイ検体として下さい。

3．アッセイと測定操作

プレートリーダー（紫外可視分光光度計）による測定（1 検体 226 μL 容量）

以下の用量で R-A 緩衝液、試料、R-R 発色試液、試料を清浄なウエル、セル等へ分注して下さい。
〇アッセイ

	アッセイ検体	
添加順と添加試薬（μL）	試薬ブランク	試料
R-A 緩衝液	200	200
精製水 or 生理食塩水	20	-
試料	-	20
↓ 十分に混合し 5 分間静置後、所定波長の吸光度 OD1 を測定 ↓		
R-R 発色試液	30	30
↓ 添加後ただちに攪拌し、5 分間静置後、所定波長の吸光度 OD2 を測定		

*ピペッティングにより泡が発生しないように丁寧に混合してください。泡が発生した場合はプレートミキサー等により除去してください。プレートミキサーのみによる混合、攪拌では再現性不良が発生する場合があります。
*発色試薬の添加後はただちに攪拌してください。値に負の誤差を与える場合があります。
アッセイボリュームを変更する場合は上記割合でアッセイして下さい。

測定条件（マイクロプレートリーダー）

測光波長（主波長）	546nm
補正波長（副波長）	600nm
感度のある波長域	540-550nm
測定温度	25～37℃
ウエル	96 穴ウエル or 分光測定用セル等

*紫外可視分光光度計を使用してキュベットで測定する場合、測定可能な検体数はマイクロプレートリーダー使用時と比較して少なくなります｡ダウンサイズされた微量セルを使用することで 96 穴ウエルと同等の測定数を得ることも可能です。詳細については、弊社 website のサポート情報「紫外可視分光計　微量セル推奨品」を御参照下さい。微量セルはセルホルダーとのクリアランスの僅差による誤差、再現性の低下などが報告されています。使用時にはセルホルダーへ均一に装着されていることを十分に確認してください。*タンパク質低吸着タイプのウエルを使用してください。

○濃度の算出（対照：試薬ブランク　例：紫外可視分光光度計）

$$\frac{(OD2_{ブランク} - OD1_{ブランク}) - (OD2_{試料} - OD1_{試料})}{OD2_{ブランク} - OD1_{ブランク}} \times 800 = 不飽和鉄結合能\ (\mu g/dL)$$

緩衝液中鉄濃度×10

$OD_{試料}$：　試料の吸光度
$OD_{ブランク}$：試薬ブランクの吸光度*単位換算　μg/dL×0.179＝μmol/L

○計算例
・主波長(546nm)のみの場合、例：96 ウエルリーダー

アッセイ検体	OD1	OD2	OD	ΔOD	UIBC(μg/L)
試薬ブランク	0.026	0.202	0.176	-	-
血清A	0.047	0.185	0.138	0.038	173
血清B	0.068	0.187	0.119	0.057	259

・補正あり(主波長 546nm/副波長 600nm)の場合、例：96 ウエルリーダー

アッセイ検体	OD1			OD2			OD	ΔOD	UIBC(μg/L)
	主波長	副波長	補正値	主波長	副波長	補正値			
試薬ブランク	0.026	0.027	-0.001	0.202	0.047	0.155	0.156	-	-
血清A	0.047	0.040	0.007	0.185	0.051	0.134	0.127	0.029	149
血清B	0.068	0.053	0.015	0.187	0.061	0.126	0.111	0.045	231

【主な仕様と性能】

項目	内容
感度	試薬ブランクを対照として、既知濃度（260 μg/dL）の管理血清中の UIBC を測定した時の吸光度は 0.02~0.100 の範囲内です。
同時再現性	同一検体を 5 回測定した時の CV は 5%以内です。
正確性	既知濃度の血清標準物質における表示値との差は 20%以内です。
測定範囲	10～800 μg/dL
共存物質の参考許容範囲	ビリルビン、溶血ヘモグロビン、アスコルビン酸は測定値にほとんど影響は与えません。

【品質保持期限と保存方法】
本品の品質保持期限は製造後 12 ヶ月です。（冷蔵 2～8℃）
開封後、冷暗所（2-8℃）で保存し、1 ヶ月以内に使用して下さい。

【参考文献】
(1)　Ramsay,W.N.M.:Chin.Chim.Acta,2.221-226(1957)

【製造販売業者】
メタロジェニクス 株式会社　千葉市中央区亥鼻 1-8-15　千葉大亥鼻イノベーションプラザ
※マイクロアッセイ ™ は、メタロジェニクス（株）の 試薬キットの名称です。

問い合わせ先
メタロジェニクス株式会社　営業部
〒260-0856　千葉市中央区亥鼻 1-8-15　千葉大亥鼻イノベーションプラザ
TEL：　043-227-6767
FAX：　043-227-6768
e-mail：　sales@ak-j.com
URL:　http://metallogenics.co.jp/

※ 取扱説明書、測定プロトコール等、製品に関する最新の情報は、下記弊社 website のサポートコーナーで御確認下さい。
http://metallogenics.com/
※ 本製品は研究用であり、その数値を完全に保証するものではございません。あらかじめご了承下さい。
※ 表記性能は汎用されているマイクロプレートリーダー、紫外可視分光光度計を用いた場合の目安です。使用機器の型式によっては完全に一致しない場合があります。あらかじめご了承下さい。
※ 品質に関してのお問い合わせの際は、試薬キット包装袋に貼付の Lot No.を御確認の上、お問い合わせ下さい。
※ 商品の仕様・サービス・包装形態・梱包形態・測定プロトコールは、予告なく変更する場合があります。本取扱説明書に従い、適切に御使用下さい。
※ 商品の輸送・取扱い・処理・廃棄については、付属の製品安全データシート（MSDS）に従って下さい。